

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-091869

(43)Date of publication of application : 16.04.1993

(51)Int.Cl. C12N 1/20
A01N 63/00
A01N 63/02
// (C12N 1/20
C12R 1:07)

(21)Application number : 03-255099 (71)Applicant : YUUKISHITSU HIRYO
SEIBUTSU KASSEI RIYOU
GIJUTSU KENKYU KUMIAI
(22)Date of filing : 02.10.1991 (72)Inventor : KINOOKA YUZO
MASUMURA HIROAKI
NOGUCHI KATSUNORI

(54) PLANT PATHOGENIC FUNGUS-INHIBITING MICROORGANISM AND ITS UTILIZATION

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain the subject microorganism effective for the ecological control of plant pathogenic fungi by separating and screening microorganismic strain from Bacillus which inhibits the growth of the plant pathogenic fungi from soil.

CONSTITUTION: Microorganismic strain belonging to the genus Bacillus having strong antagonistic properties against the Fusarium fungi, the Phytopathola fungi, etc., are separated and screened to obtain the objective Bacillus SP BS-0001 and Bacillus SP BS-0001-SMCP III. The obtained microorganism is added to or mixed with seeds, roots and leaves of plants or with soil.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 02.10.1991

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2045747

[Date of registration] 25.04.1996

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against
examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-91869

(43)公開日 平成5年(1993)4月16日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/20	A	7236-4B		
A 0 1 N 63/00	F	7106-4H		
63/02	E	7106-4H		
C 1 2 N 1/20	E	7236-4B		
// (C 1 2 N 1/20				

審査請求 有 請求項の数 3 (全 5 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平3-255099	(71)出願人	000246402 有機質肥料生物活性利用技術研究組合 東京都北区西ヶ原 1 丁目 26 番 3 号
(22)出願日	平成 3 年(1991)10月 2 日	(72)発明者	紀岡 雄三 茨城県土浦市大字常名字向荒久5508 片倉 チツカリン株式会社筑波総合研究所内
		(72)発明者	増村 弘明 茨城県土浦市大字常名字向荒久5508 片倉 チツカリン株式会社筑波総合研究所内
		(72)発明者	野口 勝憲 茨城県土浦市大字常名字向荒久5508 片倉 チツカリン株式会社筑波総合研究所内
		(74)代理人	弁理士 平木 祐輔 (外 2 名)

(54)【発明の名称】 植物病原菌抑制微生物及びその利用法

(57)【要約】

【目的】 本発明は、生態系調和型農業への利用場面の提供を目的とする。

【構成】 本発明は、植物病原菌の生育を抑制する新規微生物バチルス・エスピー(Bacillus sp.)BS-0001 又はBS-0001-SMCP III、及びこれらの生態的防除への利用に関する。

【効果】 本発明によれば、植物病原菌による病気を抑制し、作物を健全に育てることができる。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 植物病原菌の生育を抑制する新規微生物
バチルス・エスピー(Bacillus sp.) B S-0001。

【請求項2】 植物病原菌の生育を抑制する新規微生物
バチルス・エスピー(Bacillus sp.) B S-0001-SMCP I
II。

【請求項3】 新規微生物バチルス・エスピー (Bacillus sp.) B S-0001又はB S-0001-SMCP III を植物の種子、根もしくは葉面又は土壌に処理することと特徴とする該微生物の生態的防除への利用法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、植物病原菌病の制御に有効な微生物及び該微生物の生態的防除への利用法に関する。

【0002】

【従来の技術】農業及び園芸において、土壌伝染性病害が重要な問題であり、なかでも野菜、花、果樹などのフザリウム菌による萎凋病、つる割れ病、半枯病、萎黄病、乾腐病などや、フィトバソラ菌やピシウム菌、リゾクトニア菌による根腐病、疫病、苗立枯病などや、パーティシリウム菌による半身萎凋病、黄化病、また、白紋羽病菌、紫紋羽病菌による果樹、野菜の紋羽病、トマトやナスの青枯病などが大きな問題となっている。

【0003】また、空中伝染性病害においても、うどんこ病、灰色カビ病などの病気が重要な問題である。農業において、作物の安定生産のためにはこれら病害を回避することは最重要課題である。これら病害を回避するための手段としては、現在、抵抗性品種の利用や、薬剤消毒が主を占めている。

【0004】しかしながら、これらの方法だけでは病害からの回避は困難である。一方では環境、公害、健康問題から、生産物の安全性に対する見方が厳しくなり、また、世界的にも環境問題がクローズアップされ、環境保全、生態的調和型農業が求められる情勢下にある。こういった観点から、拮抗微生物を用いた病害防除の試みが数多くなされている。

【0005】綿のリゾクトニア・ソラニ (Rhizoctonia solani) 汚染土で綿をシュードモナス・フルオレッセンス (Pseudomonas fluorescens)を種子処理することにより、生存率が高まったとの報告がある[シー・アール・ホーウェル 他：ファイトパソロジー (C.R. HOWELL et al. : Phytopathology) Vol.69, No.5, 1979年]。カーネーションのフザリウム菌 (Fusarium oxysporum f. sp. dianthi)による萎凋病に対してアルカリゲネス・エスピー (Alcaligenes sp.)の菌懸濁液にカーネーションの苗を浸漬することにより萎凋病防除の可能性を示した[ジー・ワイ・ユウエン 他：ファイトパソロジー (G. Y. YUEN et al. : Phytopathology) Vol.76, No.2, 1986年]。

2

【0006】キクのリゾクトニア・ソラニ (Rhizoctonia solani) に起因するキク茎くされ病の防除に拮抗菌グリオクラディウム・デリクエッセンス (Gliocladium deliquescens)、トリコデルマ・エスピービー (Trichoderma spp.)、バチルス・エスピービー (Bacillus spp.)などを用いて試験を行っている[陳昇明 他：日本菌学会報告, 29, 1988年]。

【0007】ダイコンのリゾクトニア・ソラニ (Rhizoctonia solani) による苗立枯病菌の抑制にシュードモナス・セバシア (Pseudomonas cepacia)の種子バクテリゼーションにより効果を認めている[本間善久 他：日本植物病理学会報告, 55, 1989年]。レタスのピシウム・ウルティマム (Pythium ultimum)による病気に対して、エンテロバクター・クロアセ (Enterobacter cloacae) によるバイオコントロールの試みの報告がある[デイ・アール・フラベル 他：プラント・アンド・ソイル (D.R. FRAVEL etc. : Plant and Soil), 125, 1990年]。

【0008】豆のスクレロテウム・ロールフシ (Sclerotium rolfsii) による病気の綿のリゾクトニア・ソラニ (Rhizoctonia solani) による病気をキチン分解活性をもつセラティア・マルセッセンス (Serratia marcescens)で病害を防除する試験を行っている[アイ・チェット 他：プラント・アンド・ソイル (I. CHET etc. : Plant and Soil), 129 1990年]

こういった拮抗微生物を利用した生態的病害防除技術は、今後ますます重要になるものと考えられる。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、農業上、重要な問題である植物病害の制御に有効な方法であり、生態系調和型農業への利用場面を提供するものである。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、トマト萎凋病菌、キュウリつる割れ病菌、メロンつる割れ病菌、ダイコン萎黄病菌、イチゴ萎黄病菌などのフザリウム属菌、苗立枯病、疫病、根腐れ病のフィトバソラ属菌、ピシウム属菌、リゾクトニア属菌、トマト半身萎凋病、ハクサイ黄化病などのパーティシリウム属菌、白紋羽病を起こすロゼリニア属菌、紫紋羽病の原因であるヘリコバシディウム属菌などの植物病原菌に拮抗作用を示す菌を検索し、その利用法を鋭意研究した。

【0011】その結果、土壌中から各種病原菌に強い拮抗性を示すバチルス属菌を分離、選抜し、バチルス・エスピー (Bacillus sp.) B S-0001(微工研菌寄12534号)を得た。この菌株の同定結果は以下のとおりである。

1) 形態

(1) 細胞の形及び大きさ

0.8×2~3μmの桿菌

50 (2) グラム染色法

陰性

(3) 胞子の有無・形

有り、楕円・細胞の中心に形成し、胞子のうはふくらむ

(4) 運動性の有無

有り

2) 生理学的性質

(1) 嫌氣的性質

生育しない

い

(2) V-P 反応

—

(3) Egg-Yolk 反応

+

(4) 最高生育温度

45°C

(5) pH5.7 培地での生育

+

(6) ニュートリエント・ブローズでの生育

+

(7) NaCl (5~10%) 培地での生育

—

(8) 糖類からの酸生成

a. グルコース

+

b. アラビノース

—

c. キシロース

+

d. マンニトール

+

(9) デンプンの加水分解

+

(10) カゼインの分解

+

3) DNA 中の G+C 含量

53.2

以上の菌学的性質から本菌株はバチルス属に分類される。

【0012】類縁菌としてはバチルス・マセランス (*Bacillus macerans*) が挙げられるが、バチルス・マセランスは胞子の形成位置が細胞の端であり、嫌氣的生育を行ない、アラビノースからの酸生成を行ない、カゼインを分解しない点から本菌株とは異なり、本菌株はバチルス属に属する新菌種である。また、バチルス・エスピー (*Bacillus* sp.) BS-0001 (微工研菌寄第12534号) をニトロソグアニジン処理してクロラムフェニコール 5 ppm に耐性を持つ新規菌株バチルス・エスピー (*Bacillus* sp.) BS-0001-SMCPI III (微工研菌寄第12516号) を得た。本菌株は、クロラムフェニコールに耐性を持つ以外は、バチルス・エスピー (*Bacillus* sp.) BS-0001 と同様の菌学的性質を有していた。本発明は、また、前記新規微生物の生態的防除への利用法にも関するものである。

【0013】かかる本発明の利用法においては、バチルス・エスピー (*Bacillus* sp.) BS-0001 (微工研菌寄第12534号) 又は BS-0001-SMCPI III (微工研菌寄第12516号) を各作物種子に処理したり、養液栽培において、養液へ添加したり、ロックウールマットや土耕栽培において株元に灌注することもできる。また、本菌株をバーミキュライトやゼオライト、木炭などの多孔質資材に吸着したり、なたね油粕や蒸製骨粉、魚粕などの基質に培養したり、基質と多孔質資材の混合物に培養し、その培養物を播種床に使ったり、育苗培土に混合したり、畑に施用することもできる。この基質と多孔質資材は本

菌株の生育を阻害しないものであれば特に限定されない。

【0014】また、うどんこ病、葉カビ病、灰色カビ病などの空中伝染性糸状菌病に対して、本菌株の培養物を葉面散布することもできる。また、本菌株は他の有効菌と混合、併用することもできる。

【0015】

【実施例】以下、実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0016】

【実施例1】本発明に係わる微生物 BS-0001-SMCP II I をペプトン 0.5g、酵母エキス 0.3g、肉エキス 0.3g、グルコース 1.0g、蒸留水 100ml、pH7.0 の液体培地を用いて、30°C で 72 時間振盪培養を行った。この培養液にキュウリ (南進：タキイ種苗) の種子を 27°C で 24 時間浸漬、催芽し、1/2 単位水耕液 (NO₃-N: 9me/l, NH₄-N: 0.7me/l, Ur-N: 0.3me/l, P: 2.5me/l, K: 4.15me/l, Mg: 1.9me/l, S: 2.8me/l, Ca: 4.65me/l, Mn: 0.6ppm, B: 0.225ppm, Fe: 1.85ppm) を含浸したロックウール播種マットに播種し、温室内で 9 日間、二葉展開まで育苗し、9 cm × 9 cm のロックウール育苗マットに移植した。

【0017】移植 1 週間後にキュウリつる割れ病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* IF0 6384) の胞子懸濁液を育苗マットに 10⁸/10ml 接種した。キュウリつる割れ病菌の調製はポテト・デキストロース液体培地を用いて 27°C で 7 日間培養し、三重ガーゼでろ過し胞子液を得た。育苗期間内は適時、上記 1/2 単位水耕液を供給した。対照として、種子を蒸留水中に 27°C で 24 時間浸漬、催芽したものを同様に処理した。試験は各区 10 連で行ない、移植 22 日後の生育と発病を調査し、キュウリつる割れ病に対する生態的防除効果を比較検討した。その結果を表 1 に示した。

【0018】

【表 1】

種子処理によるキュウリつる割れ病の発病度

	発病度*	地上部重(g)
対照区	2.3	29.0
処理区	0.3	77.8

注) * 発病度

0: 無発病、1: 軽症、

2: 中症、3: 重症、枯死

【0019】BS-0001-SMCP II I 菌の種子処理により、キュウリつる割れ病の発病が抑制され、地上部重が重く、生育が優れる傾向にあった。

【0020】

【実施例2】生骨粉500g、パーミキュライト500gをオートクレーブ殺菌し、これに本発明に係わる微生物BS-0001-SMCP IIIを実施例1と同様な方法で液体培養した培養物10mlと殺菌水300mlを添加、混合して5日間培養し、40℃以下で通風乾燥して水分15%の試験試料を得た。

【0021】この試験試料を育苗培土（窒素200mg、りん酸1500mg、加里200mg、苦土石灰4000mg/l）に2%添加し、9.5cmポリポットに充填した。これに、パーミキュライト床に播種し、二葉展開したキュウリ（南進：タキイ種苗）苗を移植した。移植と同時にポテトデキスト

※ ロース液体培地で前培養しておいたキュウリつる割れ病菌（*Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* IFO 6384）の孢子懸濁液を1ポットに10⁸/10ml接種した。

【0022】対照としてBS-0001-SMCP III培養資材無添加の育苗培土を用い、3連で試験を行った。試験は播種21日後、移植、病原菌接種15日後に発病度、地上部重及び栽培土壌の微生物性を調査した。その結果を表2に示した。

【0023】

【表2】

BS-0001-SMCP III 培養資材入り培土のキュウリつる割れ病に対する生態的防除効果

	地上部重(g)	発病度	<i>F. oxysporum</i>	BS-0001-SMCP III
対 照	11.9	1.7	11.070	—
試験試料	16.0	0.3	2.700	13.300

発病度 0：無発病、1：軽症、2：中症、3：重症・枯死
菌数 CFU/g土壌

【0024】BS-0001-SMCP III培養資材を育苗培土に添加することにより、BS-0001-SMCP III菌が土壌中で増殖し、*F. oxysporum* 菌数を減少させており、その結果、キュウリつる割れ病が抑制され、生育が優れる傾向にあった。

【0025】

【実施例3】トマト萎凋病土を1/5000aワグネルポットに充填し、肥料をNとして15kg/10aとなるように有 ※

※ 機化成(8-8-8)を添加した。試験区にはBS-0001を用いて、実施例2と同様にして得た試験試料を500kg/10aとなるように添加した。これにトマト種子（大型福寿：サカタのタネ）を播種し、2カ月後に発病調査した。試験は3連で行った。その結果を表3に示した。

30 【0026】

【表3】

BS-0001培養資材のトマト萎凋病に対する生態的防除効果

	発病度
対 照	1.0
試験試料	0.3

発病度は地際部の茎の褐変程度で示した。

0：無褐変、1：わずかに褐変、
2：明確な褐変、3：著しく褐変

【0027】BS-0001培養資材を土壌に添加することにより、トマト萎凋病の発病程度が抑制される傾向にあった。

【0028】

【実施例4】BS-0001を用い、実施例2と同様にして得た試験試料を育苗培土（窒素200mg、りん酸1500mg、加里200mg、苦土石灰4000mg/l）に2%添加し、9.5cmポリポットに充填した。これに、パーミキュライト床に播

種し、二葉展開したメロン（プリンス：サカタのタネ）苗を移植した。移植と同時にポテトデキストロース液体培地で前培養しておいたメロンつる割れ病菌（*Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* IFO 6385）の孢子懸濁液を1ポットに10⁸/10ml接種した。

【0029】対照としてBS-0001 培養資材無添加の育苗培土を用い、3連で試験を行った。播種41日後に発病度と地上部重を調査した。その結果を表4に示した。

【0030】

【表4】

BS-0001培養資材入り培土のメロン
 つる割れ病に対する生態的防除効果

	地上部重(g)	発病度
対 照	23.6	2.7
試験試料	65.3	0.7

発病度 0 : 無発病、1 : 軽症、
 2 : 中症、 3 : 重症、 枯死

【0031】BS-0001培養資材を育苗培土に添加することにより、メロンつる割れ病が抑制され、メロンの生育が優れる傾向にあった。

【0032】

【実施例5】ロックウール播種マットを用いて育苗したトマト苗を二葉展開時にロックウール育苗キューブへ移植した。移植時にYPMG液体培地を用いて増殖させたBS-0001を1キューブ当り、 10^8 cell/5ml接種した。移植2日後にトマト青枯れ病菌(*Pseudomonas solanacearum**)

* m MAFF 03-01843)を接種した。対照としてBS-0001無接種区を用い、4連で試験を行った。

【0033】播種後31日間栽培し、発病度と生育を調査した。その結果を表5に示した。

【0034】

【表5】

BS-0001のトマト青枯れ病
 に対する生態的防除効果

	地上部重(g)	発病度
対 照	3.4	2.8
試験試料	7.4	0.5

発病度 0 : 無発病、1 : 軽症、
 2 : 中症、 3 : 重症、 枯死

【0035】BS-0001により、トマト青枯れ病の発生が抑制され、トマトの生育が優れる傾向がみられた。

【0036】

【発明の効果】本発明によれば、植物病原菌による病気を抑制し、作物を健全に育てることができる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.³

C12R 1:07)

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所